

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar para obtenção do grau  
de Mestre em Medicina

**TÍTULO:**

Estimulação Elétrica e Corpo Humano: Estimulação Elétrica do Nervo Tibial no Tratamento da  
Bexiga Hiperativa

**ESTUDANTE:**

Nome completo: Joana Isabel Portela Dias

Nº de aluno: 200908140

Contacto Telefónico: +351934665068

Correio Eletrónico: jipd91@gmail.com

**ORIENTADOR:**

Nome completo: Maria João Novais de Sousa Andrade

Grau académico: Doutorada em Ciências Médicas pelo Instituto de Ciências Biomédicas Abel  
Salazar

Título profissional: Professora Associada Convidada

Junho de 2015

## **Resumo**

INTRODUÇÃO: A estimulação elétrica funcional consiste na aplicação de correntes elétricas a tecidos potencialmente excitáveis de forma a substituir ou ajudar a recuperar funções perdidas, em patologias diversas. Uma das formas de recuperação ocorre através da indução de alterações fisiológicas permanentes, melhorando o estado de excitabilidade dos tecidos a longo prazo. A bexiga hiperativa é uma patologia que afeta milhões de pessoas, cujas dificuldades no tratamento farmacológico levaram à investigação do efeito terapêutico da estimulação elétrica, com resultado favoráveis.

OBJETIVOS: Elaborar uma revisão acerca das aplicações terapêuticas das correntes elétricas no corpo humano, numa perspectiva atual e futura. Como exemplo prático será desenvolvida a utilização da estimulação elétrica percutânea do nervo tibial no tratamento da bexiga hiperativa.

METODOLOGIA: Foi realizada uma pesquisa na base de dados PubMed, seleção e análise de artigos científicos publicados nesta área.

DESENVOLVIMENTO: Os benefícios da aplicação de correntes elétricas ao corpo humano são conhecidos há séculos e têm sido amplamente utilizados. Uma das aplicações da estimulação elétrica funcional, recente, mas com eficácia comprovada, é a estimulação percutânea do nervo tibial para tratamento de bexiga hiperativa. A explicação científica para os resultados obtidos continua, no entanto, em investigação. O aumento do conhecimento através de várias áreas de investigações tem revelado novas aplicações potencialmente terapêuticas para as correntes elétricas.

CONCLUSÃO: O campo das aplicações das correntes elétricas ao corpo humano encontra-se em constante evolução. Muitas destas aplicações revelaram-se benéficas, mas mais estudos são necessários para melhor compreensão da fisiologia subjacente.

**PALAVRAS-CHAVE:** Estimulação Elétrica Terapêutica, Estimulação Elétrica Funcional, Bexiga Hiperativa, Estimulação Percutânea do Nervo Tibial, Estimulação Transcutânea, Perspetiva Histórica, Futuras Aplicações

## **Abstract**

INTRODUCTION: Functional electrical stimulation is the application of electric currents to potentially excitable tissues to replace or help recover lost functions in multiple diseases. One of the ways of recovery occurs through induction of permanent physiological changes, improving the tissue excitability in long term. Overactive bladder is a condition that affects millions of people and whose difficulties in the pharmacological treatment led to the investigation of the therapeutic effect of electrical stimulation, with good results.

OBJECTIVES: This study aims to develop a review of the therapeutic applications of electrical currents in the human body, in current and future perspectives. As a practical example we will develop the use of percutaneous electrical stimulation of the tibial nerve in the treatment of overactive bladder.

METHODS: A search of scientific articles published in this area was made in PubMed database, followed by its selection and detailed analysis.

DEVELOPMENT: The benefits of applying electrical current to the human body are known centuries ago and these have been widely used. One of the recent applications of functional electrical stimulation, with proven efficacy, is percutaneous tibial nerve stimulation for treatment/symptomatic relief in patients with overactive bladder. However, the scientific explanation for these results is still in research. Increased knowledge through scientific research has revealed new potential therapeutic applications for the electric currents.

CONCLUSION: The field of electric currents application in the human body is constantly evolving. Many of these applications have proven to be beneficial, but more studies are needed to better understand the underlying physiology.

**KEYWORDS:** Electric Stimulation Therapy, Functional Electrical Stimulation, Overactive Bladder, Percutaneous Tibial Nerve Stimulation, Transcutaneous Stimulation, Historical Perspective, Future Directions

## **Agradecimentos**

À minha orientadora, Prof. Doutora Maria João Andrade, pela disponibilidade e orientação, e pelo contributo para a minha formação.

À minha família, por todo o amor e valores de empenho e dedicação que sempre me incutiram.

Aos meus amigos, pela força, ajuda e paciência, indispensáveis para a concretização desta etapa.

# Índice

Introdução .....	1
Estimulação Elétrica e Corpo Humano: Perspetiva Histórica .....	2
Princípios da Estimulação Elétrica Funcional .....	3
Aplicações Terapêuticas da Estimulação Elétrica .....	4
Bexiga Hiperativa e Estimulação Elétrica do Nervo Tibial Posterior .....	7
Futuras Aplicações Terapêuticas da Estimulação Elétrica .....	12
Conclusão .....	15
Referências .....	16

## Introdução

A estimulação elétrica funcional (EEF) é a utilização de correntes elétricas em tecidos potencialmente excitáveis de forma a substituir ou recuperar funções perdidas em indivíduos com patologias diversas, essencialmente do foro neurológico. A evolução tecnológica tem sido de tal forma acentuada que, de momento, existem já diversos dispositivos em comercialização, que permitem a restauração de funções das extremidades superiores, extremidades inferiores, bexiga, intestino, sistema cardiovascular e sistema respiratório. Por vezes, a estimulação elétrica funcional permite ainda uma melhoria a longo prazo do estado de excitabilidade dos tecidos, através da indução de alterações fisiológicas que permanecem após a estimulação. A este processo dá-se o nome de neuromodulação, isto é, modulação elétrica ou física de um nervo, com o objetivo de influenciar o comportamento fisiológico de um órgão <sup>[1,2]</sup>.

A “International Society of Continence” (ICS) define bexiga hiperativa como a presença de urgência urinária, habitualmente acompanhada de frequência e noctúria, com ou sem incontinência urinária de urgência, na ausência de infeções do trato urinário ou outra patologia óbvia <sup>[3]</sup>. A prevalência da bexiga hiperativa varia entre os 7% e os 27% para o sexo masculino e entre 9% e 43% para o sexo feminino, afetando assim milhões de indivíduos em todo o mundo. <sup>[4]</sup> Esta patologia é habitualmente tratada através de fármacos anti-muscarínicos ou reeducação do pavimento pélvico; no entanto, em muitos casos, os sintomas persistem ou os efeitos laterais dos fármacos são intoleráveis, o que leva a uma diminuição considerável na qualidade de vida destes doentes e abandono da terapêutica. Assim, é fácil compreender a necessidade da procura de opções terapêuticas eficazes e pouco invasivas, como a estimulação elétrica percutânea do nervo tibial revelou ser em diversos estudos, razão pela qual esta técnica neuromoduladora foi aprovada pela FDA (Food and Drug Administration), em 2010, para o tratamento da bexiga hiperativa <sup>[3,5]</sup>.

Este trabalho visa desenvolver uma revisão acerca das diferentes aplicações potencialmente terapêuticas das correntes elétricas ao corpo humano actuais e futuras e focalizar-se, como exemplo prático, na estimulação do nervo tibial no tratamento da bexiga hiperativa.

## **Estimulação Elétrica e Corpo Humano: Perspetiva Histórica**

A capacidade de alguns animais em gerar eletricidade era conhecida e explorada para efeitos curativos desde a Antiguidade. Scribonius Largus (14-54 d.C.), na Roma Antiga, utilizava choques elétricos produzidos por raias, para tratar diversos sintomas e doenças, incluindo cefaleias, gota e diferentes tipos de paralisia <sup>[7]</sup>.

O uso terapêutico da eletricidade era, em meados do século XVIII, algo relativamente recente. A exploração de possíveis aplicações medicinais iniciou-se após a demonstração da acumulação de carga elétrica na denominada garrafa de Leyden, por Peter Musschenbroek, em 1746. Em Paris, Nollet (1700-1770) publicou as suas observações dos efeitos biológicos da eletricidade, nomeadamente após a realização de diversas experiências com felinos e aves, constatando que estes perdiam peso após o processo de “eletrificação”. Entretanto, Jean Jallabert (1712-1768), em Genebra, relatava o tratamento bem sucedido da paralisia com a utilização de choques elétricos <sup>[6]</sup>.

Em 1791, Luigi Galvani (1737-1798) publica um documento, no qual descreve diversas experiências que levam a crer que a produção de contração muscular é possível através de estímulos elétricos. Assim, surge o denominado galvanismo, definido na época como a “eletricidade animal”, ou seja, a aplicação e/ou utilização de correntes elétricas por organismos vivos. Giovanni Aldini, sobrinho e defensor acérrimo de Galvani, passou uma grande parte da sua vida a realizar experiências com o objetivo de provar a veracidade das afirmações proferidas pelo seu tio, surpreendendo os seus contemporâneos com as espetaculares demonstrações de “reanimação galvânica”. Aldini relatou também a reabilitação completa de doentes com distúrbios de personalidade após administração transcraniana de correntes elétricas. Em 1804, é publicado, em Paris, o “Essai Théorique et Experimental sur le Galvanisme”, com descrições e ilustrações das diversas experiências levadas a cabo por Aldini durante a última década do século XVIII, inspirando assim diversos cientistas a desenvolver novas técnicas de eletroterapia <sup>[7]</sup>.

Arsène d’Arsonval (1851-1940), professor de biofísica em Paris, investigou as respostas biológicas às correntes elétricas e foi o responsável pela criação da primeira unidade clínica para tratamentos com correntes elétricas de alta frequência, já em 1895, marcando assim o aparecimento da eletroterapia moderna <sup>[6]</sup>.

Durante a década de 1940, o departamento de guerra dos Estados Unidos da América (US War Department) investigou a aplicação da estimulação elétrica para retardar e prevenir a atrofia muscular, através da aplicação dos denominados exercícios galvânicos, que aplicavam uma

corrente direta com onda monofásica, às mãos atrofiadas de doentes após lesão cirúrgica do nervo cubital <sup>[8]</sup>.

Em 1961, surge o primeiro estimulador elétrico funcional, criado por Liberson, para prevenção da queda do pé em doentes hemiplégicos, iniciando-se então o advento da estimulação elétrica funcional <sup>[9]</sup>. A partir desta data, foram iniciados diversos ensaios, com o objetivo de desenvolver um estimulador funcional para uso humano com capacidade para provocar atividade sinérgica em vários músculos. Estes esforços foram acelerados nos finais da década de 80 e início da década de 90. No entanto, se o objetivo inicial desta tecnologia era garantir a possibilidade de uma maior mobilidade a doentes com lesões medulares incapacitantes, posteriormente, com os avanços da engenharia biomédica, o rumo da estimulação elétrica funcional alterou-se consideravelmente, tendo de momento uma grande variedade de aplicações, através de dispositivos desenvolvidos para estimulação dos sistemas musculoesquelético, cardiovascular, respiratório, gastrointestinal, urinário e sistema nervoso central <sup>[1,8]</sup>.

## **Princípios da Estimulação Elétrica Funcional**

Impulsos elétricos aplicados aos nervos têm capacidade de iniciar potenciais de ação, através da despolarização das membranas celulares dos neurónios que se encontram mais próximos do local onde ocorre a estimulação. Se a despolarização atingir o nível crítico necessário, o influxo de iões de sódio do componente extracelular para o espaço intracelular produz um potencial de ação, com capacidade de propagação. Os potenciais de ação que se propagam distalmente são transmitidos até à junção neuromuscular, provocando contração das fibras musculares. Para que a estimulação elétrica seja eficaz é necessário que os neurónios periféricos aos quais o estímulo é aplicado estejam intactos, desde os cornos da medula espinal até à junção neuromuscular <sup>[1]</sup>.

Os principais componentes de um sistema de estimulação elétrica funcional são a fonte de eletricidade portátil (bateria recarregável), microprocessador (unidade de controlo), o estimulador, fios, elétrodos e/ou sensores <sup>[10]</sup>.

A estimulação elétrica pode ser realizada através de elétrodos superficiais/transcutâneos (seguros e baratos, mas o seu correto posicionamento pode ser difícil e a pele atua como fator de impedância), percutâneos (baixo risco de infeção e formação de granuloma) ou implantáveis (melhores para uso a longo-prazo; exigem intervenção cirúrgica para colocação) <sup>[10]</sup>. A



estimulação elétrica requer a presença de, pelo menos, dois eletrodos, para produção de um fluxo de corrente elétrica: um eletrodo ativo, colocado próximo do nervo periférico que se pretende estimular e um eletrodo de referência, colocado numa área com tecido menos excitável, como tendão ou fáscia (configuração monopolar) ou colocado próximo do eletrodo ativo (configuração bipolar) <sup>[1]</sup>.

O componente principal de um sistema de estimulação elétrica funcional é o microprocessador, que determina como e quando a estimulação é realizada, sendo capaz de gerar uma série de impulsos elétricos que, de maneira geral, imitam os impulsos nervosos que atravessam normalmente a medula espinal e os nervos periféricos apropriados <sup>[9]</sup>.

Os pulsos de corrente elétrica aplicados na estimulação sob a forma de onda caracterizam-se essencialmente por três parâmetros, nomeadamente a frequência do pulso, a amplitude e a sua duração, sendo que os resultados obtidos são controlados através da manipulação destes três parâmetros. Uma frequência muito baixa resulta na produção de uma série de pequenas contrações (“twitches”); acima de uma determinada frequência (frequência de fusão; frequentemente, acima de 12 a 15 Hz) a resposta passa a ser uma contração suave, mas frequências mais altas (geralmente acima dos 70 Hz), além de produzirem contrações musculares mais fortes, também podem conduzir a uma taxa mais elevada de fadiga muscular, razão pela qual estas frequências mais elevadas são, geralmente, evitadas. O aumento da amplitude e/ou da duração do estímulo, por sua vez, é capaz de aumentar o número de unidades motoras ativadas, aumentando consequentemente a força da contração muscular <sup>[1]</sup>.

Relativamente às formas de onda dos estímulos elétricos aplicados, estas são geralmente monofásicas (pulsos repetidos unidirecionais, geralmente no sentido do cátodo) ou bifásicas (pulsos repetidos com uma fase catódica/negativa, que produz potenciais de ação nos axónios próximos, seguida de uma fase anódica/positiva, que equilibra a carga do primeiro pulso, com o objetivo de reverter os processos eletroquímicos potencialmente nefastos para os tecidos que podem ocorrer na interface eletrodo-tecido durante o estímulo primário) <sup>[1]</sup>.

## **Aplicações Terapêuticas da Estimulação Elétrica**

Hoje em dia, com o desenvolvimento de novos e sofisticados dispositivos, a estimulação elétrica tem múltiplas aplicações terapêuticas comprovadas e com utilização corrente,

nomeadamente a nível dos sistemas musculo-esquelético, respiratório, gastrointestinal, genitourinário, cardiovascular e Sistema Nervoso Central.

### Sistema Musculo-esquelético

O sistema musculoesquelético beneficia, atualmente, de diversas aplicações terapêuticas da estimulação elétrica, nomeadamente prevenção da atrofia muscular, reabilitação e reeducação muscular, manutenção e aumento da amplitude dos movimentos, entre outras, com utilidade em indivíduos com lesões centrais, nomeadamente lesões medulares, acidentes vasculares cerebrais (AVC) ou trauma crânio-encefálico (TCE). O desenvolvimento de aparelhos de estimulação elétrica funcional (EEF) permitiu também, a estes indivíduos, a recuperação de algumas funções, nomeadamente a nível dos membros superiores e inferiores <sup>[1,8]</sup>.

A EEF do membro superior permite a indivíduos com lesões medulares, pós-AVC ou pós-TCE, incapazes de movimentar as extremidades superiores de forma funcional, a utilização da mão e/ou do braço em atividades da vida diária. Atualmente, existem sistemas com elétrodos superficiais, percutâneos ou implantáveis, com diferentes graus de complexidade, permitindo pinça digital e/ou preensão palmar, até mesmo movimentação do cotovelo e ombro <sup>[1]</sup>.

O desenvolvimento de EEF para os membros inferiores foi também alvo de uma extensa investigação. Atualmente, existem, por exemplo, dispositivos capazes de impedir a queda do pé, através da estimulação dos músculos dorsiflexores da tíbio-társica, com utilidade em indivíduos pós-AVC, TCE ou lesão medular ou em indivíduos com esclerose múltipla. Existem, também, dispositivos que permitem, através da estimulação de músculos como o quadríceps e os glúteos, que indivíduos paraplégicos se verticalizem a partir da posição sentada, permitindo-lhes alcançar objetos colocados em locais de outra forma inacessíveis e tornando possíveis interações sociais cara-a-cara. Outros dispositivos, de complexidade substancialmente superior, permitem, ainda, a estes indivíduos, a deambulação, por curtas distâncias, geralmente com a ajuda de um andador <sup>[1]</sup>.

### Sistemas Genitourinário e Gastrointestinal

Lesões medulares acima das raízes sagradas resultam em perda do controlo vesical e intestinal, com numerosas consequências.

Atualmente, existem sistemas implantáveis que permitem o controlo da micção, por indução da contração do detrusor, através da estimulação elétrica das raízes nervosas sagradas, mediada a partir de uma unidade externa controlada pelo utilizador. Geralmente, esta estimulação

é mais eficaz após rizotomia posterior bilateral dos nervos S2 a S4, de forma a eliminar as contrações involuntárias do detrusor e permitir a continência. A micção é alcançada através da estimulação intermitente, uma vez que o tempo de relaxamento do detrusor (músculo liso) é superior ao tempo de relaxamento do músculo estriado do esfíncter uretral externo, sendo desta forma possível conseguir a contração sustentada do detrusor e o relaxamento do esfíncter uretral entre os estímulos. Este sistema foi já implantado em mais de 2500 indivíduos com uma grande diversidade de patologias (lesões medulares, esclerose múltipla, tumores da medula espinal, mielite transversa, paralisia cerebral) <sup>[1]</sup>.

O mesmo sistema pode, ainda, ser utilizado como auxiliar da função intestinal e da ereção. A estimulação regular das raízes sagradas parassimpáticas contribui para o transporte das fezes do cólon distal para o reto, reduzindo a obstipação, sintoma comum nestes doentes. Alguns utilizadores são mesmo capazes de defecar com o auxílio deste sistema, através de um padrão de estimulação intermitente, semelhante ao utilizado para a micção, mas com intervalos superiores entre os estímulos para permitir a passagem das fezes. A ereção é, muitas vezes, conseguida, através do mesmo método, com um tipo específico de estimulação <sup>[1]</sup>.

A utilização de estimulação elétrica, através de técnicas de eletroejaculação <sup>[11]</sup> permite a recolha de espermatozoides para estudo e reprodução em doentes com lesões neurológicas centrais ou periféricas que interfiram com a capacidade ejaculatória.

### Sistema Respiratório

Indivíduos com lesões medulares cervicais altas ou com hipoventilação alveolar central tornam-se, geralmente, dependentes de ventiladores mecânicos, os quais se associam, com frequência, a complicações potencialmente fatais. A estimulação elétrica regular (“pacing”) e bilateral do nervo frénico, com conseqüente contração das cúpulas diafragmáticas, pode, nestes casos, ser útil e permitir o abandono da ventilação mecânica. A contração diafragmática provoca uma queda na pressão intratorácica, iniciando a inspiração; de seguida, a cessação do estímulo aumenta a pressão intratorácica, conduzindo à expiração. O número de ciclos por minuto é ajustado de acordo com as necessidades do utilizador <sup>[1,12]</sup>.

### Sistema Cardiovascular

Os efeitos terapêuticos da estimulação elétrica em distúrbios do ritmo cardíaco são conhecidos há já várias décadas, com um grande foco na vasta utilização de pacemakers cardíacos e cardioversores-desfibriladores implantáveis, assim como em técnicas de

ressincronização cardíaca. No entanto, além destas aplicações, a estimulação elétrica apresenta outros benefícios menos conhecidos no tratamento e prevenção da progressão da insuficiência cardíaca <sup>[13]</sup>.

### Implantes Cocleares

Os implantes cocleares são uma das neuropróteses mais utilizadas em todo o mundo, funcionando através da estimulação direta do nervo coclear. Estes dispositivos têm evoluído a bom ritmo, sendo cada vez mais discretos e mais avançados tecnologicamente, permitindo assim uma melhoria significativa da qualidade de vida dos indivíduos com dificuldades auditivas <sup>[14]</sup>.

### Estimulação Cerebral Profunda

Apesar da incompleta compreensão do seu mecanismo de ação, a estimulação elétrica cerebral, nomeadamente a denominada estimulação cerebral profunda apresenta benefícios comprovados, sendo amplamente utilizada para tratamento da doença de Parkinson, tremor essencial e distonias <sup>[15]</sup>.

### Outras aplicações

Além das aplicações supramencionadas, a estimulação elétrica tem ainda papel importante no relaxamento muscular, aumento da circulação sanguínea local, gestão da dor, prevenção e tratamento de úlceras de pressão, sendo frequentemente utilizada na sua vertente transcutânea em tratamentos de reabilitação (TENS, Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation) <sup>[8]</sup>.

## **Bexiga Hiperativa e Estimulação Elétrica do Nervo Tibial Posterior**

A bexiga tem como função o armazenamento e subsequente expulsão de urina, numa altura socialmente apropriada. Para tal, o trato urinário baixo necessita de um complexo controlo por parte do Sistema Nervoso, para o qual contribuem os centros encefálicos (frontal, gânglios da base e outros) e protuberanciais, conectados à medula espinal dorso-lombo-sagrada através de vias transespinais.

O principal objetivo, durante a fase de enchimento vesical, é a continência e a manutenção de uma pressão intravesical baixa. A regulação desta fase está, essencialmente, a

cargo do Sistema Nervoso Simpático, nomeadamente das raízes T10-L2 (plexo hipogástrico), que realizam sinapses com os gânglios do plexo pélvico. A inervação simpática do corpo e colo da bexiga e da uretra é realizada através de transmissão adrenérgica e os resultados verificados dependem do tipo de recetores predominante. O corpo vesical contém principalmente recetores beta-adrenérgicos, que, quando ativados, conduzem a relaxamento muscular; por outro lado, o colo vesical e a uretra contêm essencialmente recetores alfa-adrenérgicos, que respondem com contração muscular <sup>[16]</sup>.

A sensação de enchimento vesical tem origem nas fibras A-delta da parede vesical, por distensão; esta informação aferente dirige-se, posteriormente, via nervos pélvicos e hipogástricos, até à medula espinal lombossagrada e níveis mais elevados do Sistema Nervoso Central. Se o objetivo é, ainda, o armazenamento da urina, estas vias conduzirão ao relaxamento do detrusor e contração do colo vesical, via ativação do Sistema Nervoso Simpático e concomitantemente a um aumento involuntário e progressivo do tónus do esfíncter uretral externo. Na altura da micção altera-se o padrão dos sinais enviados pelo córtex cerebral ao centro pontino da micção, que passam de inibitórios a excitatórios. Por sua vez, o centro pontino da micção estimula os neurónios motores pré-ganglionares parassimpáticos da medula sagrada (raízes S2-S4), que ativam os neurónios pós-ganglionares nos gânglios pélvicos. O resultado final é a ativação dos recetores muscarínicos localizados na bexiga, culminando na contração vesical e consequente micção. Já a inervação do esfíncter uretral externo depende do nervo pudendo, com origem nas raízes S2-S4, sendo o controlo deste músculo voluntário. Durante a micção há normalmente relaxamento do esfíncter externo, que volta a contrair no final <sup>[16]</sup>.

A bexiga hiperativa é uma patologia que afeta milhões de indivíduos em todo o mundo, apresentado elevados custos económicos e um impacto negativo significativo na qualidade de vida dos doentes, sendo definida, atualmente, como a presença de urgência urinária, geralmente acompanhada de frequência e noctúria, com ou sem incontinência urinária de urgência, na ausência de patologia óbvia <sup>[3]</sup>. Hoje em dia, existem essencialmente duas teorias que tentam explicar a fisiopatologia da bexiga hiperativa: teoria neurogénica e teoria miogénica. A primeira baseia a explicação da presença dos sintomas típicos da bexiga hiperativa numa diminuição da inibição suprapontina do reflexo da micção, dano das vias axonais ao nível da medula espinal, aumento do input nervoso aferente do trato urinário inferior, perda da inibição periférica e/ou aumento da neurotransmissão excitatória das vias reflexas da micção. Já a teoria miogénica defende que ocorre uma desnervação neurológica parcial do músculo liso vesical, devido a um aumento da pressão intravesical, especialmente em doentes com alguma obstrução da saída

vesical; esta desnervação conduz a um aumento no número de potenciais de ação espontâneos e na capacidade de propagação destes potenciais de ação de célula para célula, resultando em microcontrações do detrusor, que aumentam a pressão intravesical e estimulam os recetores aferentes do músculo liso, que, por sua vez, enviam informação ao Sistema Nervoso Central, provocando os sintomas típicos de urgência urinária. Outra hipótese ainda prevê que as microcontrações do detrusor se devem a uma libertação anormal de acetilcolina pela fibras eferentes <sup>[17]</sup>. Resumidamente, pode-se, pois, dizer que a bexiga hiperativa advém de uma hiperatividade do músculo detrusor.

O tratamento de primeira linha para a bexiga hiperativa é, habitualmente, a terapia comportamental, com alteração dos hábitos do doente, nomeadamente ao nível da resposta à sensação subjetiva de urgência urinária e da evicção de determinados agentes dietéticos, prováveis causadores de irritação vesical (cafeína, álcool, etc.). No entanto, a melhoria sintomática da maioria dos doentes dependerá da utilização de fármacos, principalmente aqueles com capacidade de bloqueio dos recetores muscarínicos presentes na bexiga; são, portanto, utilizados fármacos anti-muscarínicos (oxibutinina, tolterodina, tróspio, solifenacina, darifenacina, fesoterodina) <sup>[18,19]</sup>. Ultimamente um novo fármaco foi aprovado em 2013 pela Comissão Europeia: o mirabegron. Este fármaco é um  $\beta$ -agonista seletivo para os recetores  $\beta_3$ -adrenérgicos, presentes no urotélio do trato urinário humano, cuja função reside no relaxamento do músculo liso da bexiga, uretra e próstata (mas com predomínio na bexiga). O mirabegron provou ser eficaz, com aumento da capacidade de armazenamento vesical, aumentando a duração da fase de enchimento. Habitualmente, há uma maior tolerância aos efeitos adversos deste fármaco, razão pela qual ele é, atualmente, uma alternativa viável aos agentes anti-muscarínicos, em doentes com bexiga hiperativa intolerantes aos efeitos adversos destes fármacos, principalmente os indivíduos idosos <sup>[20]</sup>.

No entanto, e apesar da rapidez da evolução na investigação na área da farmacologia, a adesão à terapêutica mantém-se, hoje em dia, relativamente fraca, devido aos efeitos laterais ou à falta de eficácia da terapêutica instituída, o que evidencia a premente necessidade de desenvolvimento de técnicas seguras e eficazes para o tratamento dos doentes com bexiga hiperativa e consequente melhoria na sua qualidade de vida <sup>[18,19]</sup>.

É neste contexto que surge a estimulação elétrica, como meio de neuromodulação, oferecendo uma terapêutica minimamente invasiva e reversível, capaz de influenciar positivamente o comportamento fisiológico da bexiga <sup>[21]</sup>.

Em 1966, McPherson demonstrou, pela primeira vez, que a estimulação de raízes espinais dorsais ou de vários nervos periféricos, incluindo o nervo tibial posterior, era capaz de inibir de forma eficaz a contração vesical em gatos <sup>[18]</sup>. A estimulação elétrica do nervo tibial via elétrodos de superfície, colocados ao nível do maléolo medial, foi proposta em 1983, por McGuire, tendo sido provada a sua capacidade de inibição da hiperatividade do detrusor, através de modelos animais, em 1987. A principal teoria explicativa para a eficácia da estimulação elétrica do nervo tibial no controlo dos sintomas da bexiga hiperativa é a de que, uma vez que este nervo contém fibras nervosas com origem nas raízes L4-S3, a sua estimulação leva à consequente estimulação das raízes sagradas S2-S4 (onde tem origem o plexo vesical), responsável pela inervação parassimpática da bexiga e pela inervação do pavimento pélvico, conduzindo, em última instância, a inibição central dos neurónios eferentes pré-ganglionares da bexiga e, consequentemente, a uma melhoria do controlo vesical <sup>[16,19,22]</sup>. Estudos de tomografia com emissão de positrões revelaram um aumento adicional da plasticidade neural, durante o processo de neuromodulação, em áreas corticais associadas à aprendizagem motora e à musculatura do pavimento pélvico e abdómen. Outros estudos, revelaram também alguns factos interessantes, embora de difícil interpretação à luz do conhecimento atual, nomeadamente uma redução da contagem de mastócitos na bexiga de ratos do sexo feminino, após estimulação percutânea do nervo tibial <sup>[23]</sup>, e redução da expressão de C-fos (marcador de atividade metabólica neuronal) ao nível da medula espinal sagrada em ratos <sup>[24]</sup>. Um outro estudo, publicado em 2009, demonstrou um aumento significativo na amplitude dos potenciais evocados somatossensitivos de longa latência (LL-SSEP), verificados 24 horas após um programa de estimulação percutânea do nervo tibial; este achado pode refletir uma modificação nos mecanismos de elaboração dos estímulos sensitivos <sup>[25]</sup>.

No entanto, apesar dos seu vasto uso clínico, o mecanismo exato da neuromodulação na micção permanece, em grande parte, desconhecido <sup>[26,27]</sup>.

A técnica de estimulação percutânea do nervo tibial para tratamento dos sintomas da bexiga hiperativa baseia-se na colocação de uma agulha 34-gauge munida de um eléctrodo, cerca de 4-5 centímetros acima do maléolo medial, a uma profundidade de aproximadamente 3 centímetros. A correta colocação do eléctrodo é confirmada após a aplicação de corrente elétrica, com a verificação de flexão do hálux ou movimento dos restantes dedos do pé ipsilateral. O eléctrodo de referência é colocado superficialmente no arco do pé. A corrente é geralmente aplicada sob a forma de onda retangular, contínua, com duração de 200  $\mu$ s e frequência de 20 Hz. A intensidade da corrente é determinada pelo nível mais elevado tolerado pelo doente. As

sessões de estimulação têm uma duração de 30 minutos, sendo realizadas com uma frequência semanal, durante 10-12 semanas <sup>[18,19,27]</sup>.

A estimulação percutânea do nervo tibial é considerada uma técnica eficaz, com melhoria sintomática comparável à dos fármacos anti-muscarínicos <sup>[28]</sup>, e relativamente inócua, uma vez que não apresenta efeitos adversos major; na verdade, os únicos efeitos adversos relatados na literatura são, dor ligeira a moderada e equimose no local de inserção da agulha e parestesias <sup>[18,27]</sup>. A maior parte dos estudos defende, ainda, a necessidade de tratamento de manutenção ocasional, com base nos sintomas desenvolvidos pelos doentes ao longo do tempo, após o tratamento inicial <sup>[18,29]</sup>. Um estudo publicado em 2011, realizado em gatos, demonstrou que a estimulação repetida de curta duração do nervo tibial induz um efeito inibitório que persiste após a estimulação e aumenta a capacidade vesical, o que parece resultar da modulação direta do centro pontino da micção ou da supressão do input aferente desse mesmo circuito <sup>[30]</sup>. Os resultados do estudo STEP, publicado em 2013, revelaram que a estimulação percutânea do nervo tibial é uma terapêutica segura e eficaz na redução dos sintomas da bexiga hiperativa, até um período de 3 anos, com uma média de um tratamento mensal, após o protocolo inicial de 12 semanas <sup>[31]</sup>.

A estimulação percutânea do nervo tibial tem, contudo, um inconveniente, uma vez que exige frequentemente a deslocação dos doentes até ao gabinete médico, com uma frequência semanal durante um período considerável de tempo, o que pode ser um importante fator de abandono da terapêutica. Como tal, diversos estudos procuraram avaliar a possível eficácia da estimulação transcutânea do nervo tibial, a qual poderia ser realizada no domicílio. Neste caso, o campo elétrico é criado entre dois elétrodos de superfície, sendo necessária uma maior corrente elétrica, de forma a ultrapassar a impedância da pele <sup>[29]</sup>. Um estudo de 2014 demonstrou que a estimulação transcutânea dos nervos do pé e tornozelo tem a capacidade de adiar a sensação de preenchimento da bexiga e aumenta significativamente a capacidade vesical em indivíduos saudáveis (sem sintomas de bexiga hiperativa) <sup>[32]</sup>. A estimulação transcutânea do nervo tibial parece, pois, ser uma opção terapêutica promissora e não invasiva, após falha do tratamento anti-muscarínico; no entanto, a utilização de uma intensidade superior pode levar ao recrutamento de uma maior quantidade de nervos aferentes, conduzindo à sensação de dor que, por sua vez, pode ser responsável por uma estimulação subótima <sup>[29,33]</sup>. São, portanto, necessários mais estudos neste contexto, para determinação da duração, intensidade e padrão ideais de estimulação.



## **Futuras Aplicações Terapêuticas da Estimulação Elétrica**

Com o rápido desenvolvimento tecnológico que se verifica atualmente, é fácil compreender a constante introdução de novos e sofisticados sistemas de Estimulação Elétrica Funcional, nomeadamente com componentes cada vez mais miniaturizados, elétrodos mais eficazes e configurações de sistema aplicáveis a uma enorme variedade de situações clínicas, notavelmente mais complexas. Os dispositivos de EE, por exemplo, são cada vez mais funcionais e, também, cada vez mais atraentes esteticamente, estando em desenvolvimento sistemas avançados de controlo das mesmas, nomeadamente sistemas de controlo sem fios <sup>[1,10]</sup>.

Por outro lado, a constatação da presença e importância fundamental dos campos elétricos endógenos durante o desenvolvimento precoce, nomeadamente durante o desenvolvimento do Sistema Nervoso em vertebrados e na cicatrização de feridas conduziu à proposta e posterior investigação da possibilidade de utilização da estimulação elétrica no campo terapêutico regenerativo <sup>[9,34,35]</sup>. Na verdade, os campos elétricos influenciam uma grande diversidade de processos celulares *in vivo*, como controlo do ciclo celular, migração e proliferação celular, crescimento axonal, reparação epitelial de feridas, regeneração tecidual, estabelecimento da assimetria corporal, entre outros <sup>[35,36]</sup>.

### **Correntes Elétricas e Neuroregeneração**

Após uma lesão nervosa, os axónios que foram arrancados do corpo celular sofrem um processo, denominado degeneração Walleriana, com fragmentação e desintegração celular, que leva alguns dias. Este processo ocorre tanto no Sistema Nervoso Periférico como no Sistema Nervoso Central e é seguido de infiltração de células do sistema imunológico que têm como principal papel a limpeza dos restos celulares. No Sistema Nervoso Periférico, as células de Schwann circundantes expressam proteínas que estimulam e guiam o crescimento axonal e consequente reinervação; no entanto, este mecanismo é muitas vezes inadequado, conduzindo a uma regeneração incompleta, aquando de lesões de larga escala ou quando estão presentes grandes quantidades de vestígios celulares e reações inflamatórias <sup>[34]</sup>.

Por outro lado, no Sistema Nervoso Central, a recuperação após lesão parece ser muito mais rara e difícil, o que levou muitos cientistas a considerar a presença de um défice intrínseco de regeneração nervosa a nível central. No entanto, há cerca de um século, o neurologista espanhol Ramon y Cajal concluiu que a incapacidade de regeneração do Sistema Nervoso Central se devia à ausência de certos fatores promotores de crescimento <sup>[9,34]</sup>. Esta conclusão

abriu um enorme leque de possibilidades e conduziu a uma grande diversidade de investigações e ensaios com o objetivo de permitir uma regeneração axonal rápida e eficaz, principalmente ao nível da medula espinal.

A aplicação de correntes elétricas às lesões medulares foi, então, proposta como uma forma de promover e guiar o crescimento axonal. Esta ideia foi apoiada por diversos estudos *in vitro* e *in vivo*, posteriormente realizados, tendo-se concluído que a aplicação de um gradiente de voltagem tem efeitos tróficos, com capacidade de direção do crescimento de neuritos (projeções precoces dos neurónios) em direção ao cátodo e, ainda, de aceleração do crescimento nervoso [37]. Estes efeitos parecem ser mediados via recetores de membrana e mensageiros secundários, como adenilciclase e neuropéptidos. A direção do campo elétrico parece ser crucial para o efeito benéfico verificado; o cátodo parece influenciar positivamente a recuperação através de redução dos efeitos citodestrutivos das correntes endógenas de cálcio que se verificam nos neurónios lesionados [9,34].

Os resultados favoráveis em modelos animais, nomeadamente em cobaias e cães, levaram ao desenvolvimento de um ensaio clínico de fase 1, com 10 doentes, tendo como principal objetivo a avaliação da segurança do procedimento. Uma vez que a colocação do cátodo medial ou distalmente à lesão apenas permitiria a regeneração numa direção, foi desenvolvido e utilizado um estimulador implantado com polaridade oscilante a cada 15 minutos, previamente testado em modelo canino. Concluiu-se, pois, que o procedimento era seguro e os resultados positivos a nível sensitivo e motor prevêm a potencial eficácia do método, embora a amostra seja bastante inferior ao necessário para inferir conclusões. Como tal, a FDA permitiu o recrutamento de mais doentes [38]. Este segundo ensaio clínico, com 14 doentes, assegurou mais uma vez a segurança do procedimento, com resultados promissores, salientando-se a necessidade de mais ensaios clínicos com amostras maiores [39].

#### Correntes elétricas e Cancro

Já no século XXI, trabalhos na área do cancro, revelaram que campos elétricos com corrente alternada (1 V/cm, 100-300 kHz) eram capazes de inibir o crescimento de culturas de células tumorais e melanomas de ratos e, até mesmo, de células de glioblastomas altamente malignos em humanos, o que parece dever-se a uma interferência com a polimerização de microtúbulos, que, por sua vez, conduz a inibição do ciclo mitótico [36,40]. Embora ainda relativamente pouco se saiba acerca da influência da aplicação de correntes elétricas no controlo

da proliferação, diferenciação e migração de células tumorais, uma maior investigação neste campo é importante para a criação de novas e promissoras abordagens terapêuticas ao cancro.

#### Correntes elétricas e Bioengenharia de tecidos

A estimulação elétrica, através da sua capacidade de alinhamento e orientação do crescimento celular, pode ser aplicada à criação e desenvolvimento de tecidos biológicos, abrindo assim novas possibilidades na área da bioengenharia e permitindo uma maior complexidade no design destes tecidos. Por outro lado, a sua capacidade de induzir a produção e libertação de fatores de crescimento por parte das células reduz a necessidade de utilização destes fatores de crescimento e/ou de outros estímulos mais dispendiosos na produção de tecidos biológicos, reduzindo assim os custos de todo o processo <sup>[41]</sup>.

## Conclusão

O conhecimento dos efeitos benéficos e terapêuticos das correntes elétricas no ser humano tem já uma ampla história. Esse conhecimento aliado ao desenvolvimento científico permite, atualmente, compreender um pouco melhor a sua atuação e as suas possíveis aplicações.

Atualmente, a estimulação elétrica é utilizada para o tratamento ou alívio de uma grande variedade de sintomas e patologias, com aplicações a quase todos os sistemas do corpo humano, quer para substituição ou recuperação da função, quer por mecanismos de neuromodulação, isto é, através da indução de alterações fisiológicas que permanecem após a estimulação, conduzindo a uma melhoria a longo prazo do estado de excitabilidade dos tecidos.

No entanto, muitas das aplicações terapêuticas da estimulação elétrica permanecem sem explicação científica concreta, apesar dos seus resultados comprovados e da sua utilização recomendada por guidelines internacionais, como é o caso da estimulação percutânea do nervo tibial para o tratamento da bexiga hiperativa.

Hoje em dia, as potencialidades da estimulação elétrica continuam em constante evolução, nomeadamente com o desenvolvimento de aparelhos de EEF com elevada complexidade, capazes de restaurar diversas funções, mas também com possíveis aplicações a nível de neurorregeneração, abordagens terapêuticas do cancro e bioengenharia de tecidos. São necessários mais estudos para melhorar a compreensão dos mecanismos de ação subjacentes a estes efeitos benéficos, assim como para o melhor entendimento das condições ideais da sua utilização, de modo a facilitar a sua utilização em grande escala.

De qualquer modo, esta será, sem dúvida, uma área de grande desenvolvimento num futuro muito próximo; daí a importância do seu estudo e conhecimento, devendo-se considerar seriamente a inclusão da sua abordagem nos cursos de Medicina.

## Referências

- [1] Peckham PH, Knutson JS (2005) Functional electrical stimulation for neuromuscular applications. *Ann Rev Biomed Eng* 7:327-60.
- [2] Burks FN, Bui DT, Peter KM (2010) Neuromodulation and the Neurogenic Bladder. *UrolClin North Am* 37(4):559-65.
- [3] Haylen BT, de Ridder D, Freeman RM et al (2010) An International Urogynecological Association (IUGA)/International Continence Society (ICS) joint report on the terminology for female pelvic floor dysfunction. *NeurourolUrodyn* 29:4.
- [4] Gormley EA, Lightner DJ, Burgio KL, Chai TC, Clemens JQ, Culkin DJ, Das AK, Foster HE Jr, Scarpero HM, Tessier CD, Vasavada SP; American Urological Association; Society of Urodynamics, Female Pelvic Medicine & Urogenital Reconstruction (2012) Diagnosis and treatment of overactive bladder (non-neurogenic) in adults: AUA/SUFU guideline. *J Urol* 188(6 Suppl):2455-63.
- [5] Ellsworth P (2012) Treatment of overactive bladder symptoms beyond antimuscarinics: current and future therapies. *Postgrad Med* 124(3):16-27.
- [6] Duck FA (2014) The origins of medical physics. *Phys Med* 30(4):397-402.
- [7] Parent A (2004) Giovanni Aldini: From Animal Electricity to Human Brain Stimulation. *Can J NeurolSci* 31(4):576-84.
- [8] Tiktinsky R, Chen L, Narayan P (2010) Electrotherapy: Yesterday, Today And Tomorrow. *Haemophilia* 16:126-131.
- [9] Hamid S, Hayek R (2008) Role of electrical stimulation for rehabilitation and regeneration after spinal cord injury: an overview. *Eur Spine J* 17:1256-1269.

- [10] Ragnarsson KT (2008) Functional electrical stimulation after spinal cord injury: current use, therapeutic effects and future directions. *Spinal Cord* 46(4):255-74.
- [11] Biering-Sørensen F, Sønksen J (2001) Sexual function in spinal cord lesioned men. *Spinal Cord* 39(9):455-70.
- [12] DiMarco AF, Onders RP, Ignagni A, Kowalski KE, Mortimer JT (2005) Phrenic nerve pacing via intramuscular diaphragm electrodes in tetraplegic subjects. *Chest* 127(2):671-8.
- [13] Cornelussen RN, Splett V, Klepfer RN, Stegemann B, Kornet L, Prinzen FW (2011) Electrical modalities beyond pacing for the treatment of heart failure. *Heart Fail Rev* 16(3):315-25.
- [14] Eshraghi AA, Nazarian R, Telischi FF, Rajguru SM, Truy E, Gupta C (2012) The cochlear implant: historical aspects and future prospects. *Anat Rec (Hoboken)* 295(11):1967-80.
- [15] Miocinovic S, Somayajula S, Chitnis S, Vitek JL (2013) History, applications, and mechanisms of deep brain stimulation. *JAMA Neurol* 70(2):163-71.
- [16] Van Rey FS, Heesakkers JP (2008) Applications of neurostimulation for urinary storage and voiding dysfunction in neurological patients *UrolInt* 81(4):373-8.
- [17] Wein AJ, Rackley RR (2006) Overactive bladder: a better understanding of pathophysiology, diagnosis and management. *J Urol* 175(3 Pt 2):S5-10.
- [18] Staskin DR, Peters KM, MacDiarmid S, Shore N, de Groat WC (2012) Percutaneous tibial nerve stimulation: a clinically and cost effective addition to the overactive bladder algorithm of care. *CurrUrol Rep* 13(5):327-34.
- [19] Bartley J, Gilleran J, Peters K (2013) Neuromodulation for overactive bladder. *Nat Rev Urol* 10(9):513-21.

- [20] Bridgeman MB, Friia NJ, Taft C, Shah M (2013) Mirabegron:  $\beta$ 3-adrenergic receptor agonist for the treatment of overactive bladder. *Ann Pharmacother*. 2013 Jul-Aug;47(7-8):1029-38.
- [21] Burks FN, Bui DT, Peters KM (2010) Neuromodulation and the neurogenic bladder. *UrolClin North Am* 37(4):559-65.
- [22] Arrabal-Polo MA, Palao-Yago F, Campon-Pacheco I, Martinez-Sanchez M, Zuluaga-Gomez A, Arrabal-Martin M (2012) Clinical Efficacy in the Treatment of Overactive Bladder Refractory to Anticholinergics by Posterior Tibial Nerve Stimulation. *Korean J Urol* 53(7):483-486.
- [23] Danisman A, Kutlu O, Akkaya E, Karpuzoğlu G, Erdoğan T (2007) Tibial nerve stimulation diminishes mast cell infiltration in the bladder wall induced by interstitial cystitis urine. *Scand J UrolNephrol* 41(2):98-102.
- [24] Chang CJ, Huang ST, Hsu K, Lin A, Stoller ML, Lue TF (1998) Electroacupuncture decreases c-fos expression in the spinal cord induced by noxious stimulation of the rat bladder. *J Urol* 160(6 Pt 1):2274-2279.
- [25] FinazziAgrò E, Rocchi C, Pachatz C, Petta F, Spera E, Mori F, Sciobica F, Marfia GA (2009) Percutaneous tibial nerve stimulation produces effects on brain activity: study on the modifications of the long latency somatosensory evoked potentials. *NeurolUrolUrodyn* 28(4):320-324.
- [26] Gaziev G, Topazio L, Iacovelli V, Asimakopoulos A, Di Santo A, De Nunzio C, Finazzi-Agrò E (2013) Percutaneous Tibial Nerve Stimulation (PTNS) efficacy in the treatment of lower urinary tract dysfunctions: a systematic review. *BMC Urol* 25;13:61.
- [27] Kacker R, Lay A, Das A (2013) Electrical and Mechanical Office-based Neuromodulation. *UrolClin North Am* 40(4):581-9.

- [28] Burton C, Sajja A, Latthe PM (2012) Effectiveness of percutaneous posterior tibial nerve stimulation for overactive bladder: a systematic review and meta-analysis. *NeurourolUrodyn* 31(8):1206-16.
- [29] van der Pal F, van Balken MR, Heesakkers JP, Debruyne FM, Bemelmans BL (2006) Percutaneous tibial nerve stimulation in the treatment of refractory overactive bladder syndrome: is maintenance treatment necessary? *BJU Int* 97(3):547-50.
- [30] Tai C, Shen B, Chen M, Wang J, Roppolo JR, de Groat WC (2011) Prolonged poststimulation inhibition of bladder activity induced by tibial nerve stimulation in cats. *Am J PhysiolRenPhysiol* 300(2):F385-92.
- [31] Peters KM, Carrico DJ, Wooldridge LS, Miller CJ, MacDiarmid SA (2013) Percutaneous Tibial Nerve Stimulation for the Long-Term Treatment of Overactive Bladder: 3-Year Results of the STEP Study. *J Urol* 189(6):2194-201.
- [32] Chen ML, Chermansky CJ, Shen B, Roppolo JR, de Groat WC, Tai C (2014) Electrical stimulation of somatic afferente nerves in the foot increases bladder capacity in healthy human subjects. *J Urol* 191(4):1009-13.
- [33] Ammi M, Chautard D, Brassart E, Culty T, Azzouzi AR, Bigot P (2014) Transcutaneous posterior tibialnervestimulation: evaluation of a therapeutic option in the management of anticholinergic refractory overactive bladder. *IntUrogynecol J* 25(8):1065-9.
- [34] Haan N, Song B (2014) Therapeutic Application of Electric Fields in the Injured Nervous System. *Adv Wound Care (New Rochelle)* 3(2):156-165.
- [35] Messerli MA, Graham DM (2011) Extracellular Electrical Fields Direct Wound Healing and Regeneration. *Biol Bull* 221(1):79-92.
- [36] McCaig CD, Song B, Rajnicek AM (2009) Electrical dimensions in cell science. *J Cell Sci* 122(Pt 23):4267-76.



[37] Thompson DM, Koppes AN, Hardy JG, Schmidt CE (2014) Electrical Stimuli in the Central Nervous System Microenvironment. *Annu Rev Biomed Eng.* 16:397-430.

[38] Shapiro S, Borgens R, Pascuzzi R, Roos K, Groff M, Purvines S, Rodgers RB, Hagy S, Nelson P (2005) Oscillating field stimulation for complete spinal cord injury in humans: a phase 1 trial. *J Neurosurg Spine* 2(1):3-10.

[39] Shapiro S (2014) A review of oscillating field stimulation to treat human spinal cord injury. *World Neurosurg* 81(5-6):830-5.

[40] Kirson ED, Dbalý V, Tovarys F, Vymazal J, Soustiel JF, Itzhaki A, Mordechovich D, Steinberg-Shapira S, Gurvich Z, Schneiderman R, Wasserman Y, Salzberg M, Ryffel B, Goldsher D, Dekel E, Palti Y (2007) Alternating electric fields arrest cell proliferation in animal tumor models and human brain tumors. *ProcNatlAcadSci U S A* 104(24):10152-7.

[41] Balint R, Cassidy NJ, Cartmell SH (2013) Electrical stimulation: a novel tool for tissue engineering. *Tissue Eng Part B Rev* 19(1):48-57.